

Nivel óptimo de fósforo disponible aparente en gallinas Leghorn blanca de la línea Hy-line W36 durante el primer ciclo de producción

Optimum level of apparent available phosphorus for Leghorn white hens (Hy-line W36) during the first laying cycle

Víctor Manuel Valdés-Narváez^a, Manuel Cuca-García^a, Arturo Pro-Martínez^a, José Luis Figueroa-Velasco^a, Mariano González-Alcorta^b, Carlos M. Becerril-Pérez^a

RESUMEN

El fósforo es importante en el metabolismo de la gallina. Por ello, se realizó un experimento con 200 gallinas Leghorn Hy-line® W-36 para encontrar el nivel óptimo biológico (NOB) y el nivel óptimo económico (NOE) de fósforo disponible aparente (Pd). Se usaron cuatro niveles de Pd (0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 %) durante seis periodos de ocho semanas cada uno. Las variables evaluadas fueron: consumo de alimento (CAL), masa de huevo (MH), conversión alimenticia (CA), peso del huevo (PH) y gravedad específica (GE). El periodo afectó ($P < 0.05$) todas las variables. El nivel de Pd en la dieta tuvo un efecto ($P < 0.05$) cúbico en CAL (97.4, 99.4, 98.0, 97.8), MH (50.6, 51.9, 50.3, 51.6) y CA (1.93, 1.93, 1.96, 1.90). El nivel de Pd tuvo un efecto ($P < 0.05$) cuadrático en GE (1.081, 1.081, 1.081, 1.087). No se hallaron diferencias ($P > 0.05$) en PH por efecto de Pd. El NOB para máxima MH, mínima CA, y máxima GE fue 0.18 %, 0.18 % y 0.23 %, respectivamente. El NOE para máximas utilidades fue 0.175 % y es sensible a variaciones en el precio del huevo y del fosfato monocálcico. Se concluye que para una óptima producción de huevo se necesitan menos de 0.25 % de fósforo disponible aparente en la dieta de gallinas de primer ciclo de producción.

PALABRAS CLAVE: Necesidades de fósforo, Fósforo disponible aparente, Producción de huevo, Calidad cascarón, Edad gallinas.

ABSTRACT

Phosphorus (P) is an important mineral for the hen metabolism. An experiment was conducted with 200 Leghorn Hy-line® W-36 hens to find the optimum biological level (OBL) and the optimum economical level (OEL) of apparent available phosphorus (aP). Four levels of aP were used: (0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 %) during six periods of eight weeks each. The analyzed variables were: feed intake (FI), egg mass (EM), feed conversion (FC), egg weight (EW), and specific gravity (SG). Period affected ($P < 0.05$) all analyzed variables. The dietary apparent aP had a cubic ($P < 0.05$) effect on FI (97.4, 99.4, 98.0, 97.8), EM (50.6, 51.9, 50.3, 51.6) and FC (1.93, 1.93, 1.96, 1.90). The level of apparent aP had a quadratic ($P < 0.05$) effect on SG (1.081, 1.081, 1.081, 1.087). There was no difference ($P > 0.05$) on EW as effect of aP level. The BOL for maximum EM, minimum FC, and maximum SG were 0.18 %, 0.18 % and 0.23 %, respectively. The EOL for maximum profits was 0.18 % and is sensitive to variations in the prices of egg and monocalcium phosphate. In conclusion, for an optimum egg production hens need less than 0.25 % of apparent available phosphorus in diets for the first laying production cycle.

KEY WORDS: Phosphorus requirements, Apparent available phosphorus, Egg production, Eggshell quality, Hens age.

INTRODUCCIÓN

El fósforo es un nutrimento esencial para la gallina, debido a que realiza varias funciones en el

INTRODUCTION

The phosphorus (P) is an essential nutrient for hens because it does several functions in the

Recibido el 10 de marzo de 2005 y aceptado para su publicación el 8 de octubre de 2005.

^a Colegio de Postgraduados, Departamento de Ganadería. Km. 36.5 carretera México-Texcoco, 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. Tel. (595) 9520200 ext. 1725 ó 1726. Fax (55) 58045979. jmcuca@colpos.mx. Correspondencia al segundo autor.

^b Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Zootecnia..

organismo, como son: mineralización de los huesos, almacenamiento de energía, formación del cascarón y metabolismo energético^(1,2,3). Sin embargo, la tendencia ha sido disminuir la concentración de este mineral en la dieta de las gallinas. Como resultado de los estudios que se han realizado para establecer el requerimiento de fósforo disponible aparente (Pd), el NRC⁽⁴⁾ sugiere 0.25 % de Pd.

El nivel de Pd se trata de reducir por tres razones: a) las fuentes inorgánicas de fósforo han incrementado su precio en años recientes⁽¹⁾; b) actualmente se dispone de técnicas más precisas para medir la disponibilidad del fósforo, por lo que se pueden establecer las necesidades con mayor precisión; y c) en algunas regiones se han generado problemas de contaminación con fósforo^(5,6).

Por otra parte, las empresas comerciales sugieren niveles elevados de Pd, por ejemplo 0.4 % para gallinas Leghorn Hy line W-36⁽⁷⁾, tal vez para asegurar un aporte adecuado, previendo una baja disponibilidad en los ingredientes⁽¹⁾.

A pesar de que se han realizado numerosas investigaciones para determinar las necesidades de fósforo y los resultados están entre 0.13 y 0.30 % de Pd^(1,3,6), aún no se tiene claridad del nivel adecuado, y son pocos los estudios que se han realizado abarcando todo un ciclo de producción^(3,8). Además, debido a la mejora genética, las gallinas actuales son más productivas^(3,9) y con características diferentes, como menor peso y menor consumo de alimento⁽⁶⁾. Por estas razones, se realizó esta investigación con la finalidad de obtener el nivel óptimo de fósforo disponible aparente en gallinas Leghorn blanca de la línea Hy-line W-36, durante su primer ciclo de producción de huevo (esta estirpe representa el 60 % de la parvada en México y el 80 % de las gallinas en producción comercial en USA)⁽⁶⁾.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase experimental se realizó en las instalaciones avícolas del Colegio de Postgraduados, ubicadas en Montecillo, Texcoco, México, de abril de 2003 a marzo de 2004, que abarcó el primer ciclo de

organism, such as: bone mineralization, energy storage, shell formation and energy metabolism^(1,2,3). However, it has been a tendency to reduce the concentration of this element in the hen diets. As a result of several studies conducted to set the requirement of available phosphorus (aP), the NRC⁽⁴⁾ suggests 0.25 % of aP. There are three reasons to reduce aP: a) the inorganic sources of P have increased their cost during the last decade⁽¹⁾; b) there are currently more precise techniques to measure the availability of P, so, the requirement of this element can be established with higher precision; and c) there have been problems with phosphorus pollution in several regions^(5,6).

On the other hand, the commercial producers of hens suggest higher levels of P, such as 0.4 % for Leghorn Hy Line W-36 hens⁽⁷⁾, maybe to assure an adequate intake, foresighting a lower availability of P in the ingredients⁽¹⁾.

In spite of several investigations to determine the P needs and the results showed the requirements are between 0.13 and 0.30 % of aP^(1,3,6), still there is not clear the adequate level and few studies have been conducted including the whole production cycle^(3,8). In addition, due to the genetic improvement, the hens are now more productive^(3,9) and with different characteristics such as lower body weight and lower feed intake⁽⁶⁾. Because of those reasons, this research was conducted to obtain the optimum level of apparent available phosphorus for Leghorn white Hy-line W-36 hens during their first cycle of production; this breed represents 60 % of commercial egg production in Mexico and 80 % in USA⁽⁶⁾.

MATERIALS AND METHODS

This experiment was conducted in the poultry unit of *Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo*, Texcoco, México, and lasted from April 2003 to March 2004; that included the first cycle of egg production. Two hundred Leghorn hens (Hy-Line[®] W-36), 22 wk of age, penned in single cages (50x20x40 cm) were utilized. The hens had free access to feed and water. The light was artificially adjusted to give 16 h of light d⁻¹. Previously, pullets

postura. Se utilizaron 200 gallinas Leghorn de la línea Hy-Line® W-36, de 22 semanas de edad, alojadas en jaulas individuales de 50x20x40 cm, a las que se dio alimento y agua a libre acceso. La iluminación se ajustó con luz artificial en función del fotoperíodo para completar 16 h luz día⁻¹. Previo al experimento, las aves se vacunaron contra gumboro, viruela, Newcastle e influenza aviar.

Las dietas fueron en harina, se formularon con base en sorgo y pasta de soya, cubriendo las necesidades de nutrimentos propuestos por el

were vaccinated against Gumboro, Chicken pox, Newcastle and Avian influenza.

Diets were in form of meal, formulated with sorghum-soybean meal, to meet the requirements suggested by NRC⁽⁴⁾ for laying hens, changing the apparent available phosphorus level accordingly with the treatment, as is shown in Table 1. The P analysis indicated a 20 % content in monocalcium phosphate. To obtain the aP levels, the monocalcium orthophosphate was considered 100 % available, and the phosphorus

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales

Table 1. Composition of experimental diets

	Level of apparent available phosphorus (%)			
	0.15	0.20	0.25	0.30
Ingredients:				
Sorghum (8.8 % CP*)	64.33	64.33	64.33	64.33
Soybean meal (45 % CP*)	24.09	24.09	24.09	24.09
Soybean oil	1.73	1.73	1.73	1.73
Calcium carbonate (37 % Ca*)	8.46	8.34	8.22	8.09
Monocalcium phosphate ¹ (18 % Ca*; 20 % P*)	0.19	0.44	0.69	0.94
Sand	0.38	0.25	0.12	0.00
SALT	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-methionine	0.20	0.20	0.20	0.20
HCl-lysine	0.02	0.02	0.02	0.02
Vitamin-mineral premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25
Pigment	0.10	0.10	0.10	0.10
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Cost (\$ kg ⁻¹)	2.691	2.700	2.708	2.717
Calculated analysis				
Metabolizable energy, kcal/kg	2800	2800	2800	2800
Crude protein (Nx6.25)	16.5	16.5	16.5	16.5
Lysine, %	0.80	0.80	0.80	0.80
Methionine, %	0.45	0.45	0.45	0.45
Methionine + cystine, %	0.72	0.72	0.72	0.72
Threonine, %	0.60	0.60	0.60	0.60
Linoleic acid, %	1.70	1.70	1.70	1.70
Calcium, %	3.25	3.25	3.25	3.25
Total phosphorus, %	0.38	0.43	0.48	0.53
Total phosphorus, % analyzed**	0.39	0.43	0.47	0.55
Apparent available phosphorus, %	0.15	0.20	0.25	0.30

* Analyzed in our Laboratory.

¹ Biophos®

² Avitep® laying HL, supplied by ton of feed: 7 700 000 IU vitamin A; 3 000 000 IU vitamin D₃; 6 600 IU vitamin E; 2 g vitamin K₃; 4.4 g vitamin B₂; 8.8 mg vitamin B₁₂; 5.5 g panthotenic acid; 22 g niacin; 0.11 g folic acid; 300 g choline; 33 g Fe; 100 g Zn; 100 g Mn; 9 g Cu; 0.3 g Se; 0.9 g I; and 5 g antioxidant.

CP= Crude protein.

NRC⁽⁴⁾ para gallinas en postura, variando únicamente el nivel de fósforo disponible aparente (Pd) de acuerdo con los tratamientos, como se muestra en el Cuadro 1. Los análisis de fósforo total indicaron un contenido de 20 % para el fosfato monocalcico. Para obtener los niveles de Pd se consideró como disponible el 100 % del fósforo total del fosfato monocalcico y el 33 % del fósforo del sorgo y de la pasta de soya^(3,4).

Se usó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 4 x 6, donde los factores fueron: cuatro niveles de fósforo disponible aparente (0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 %) y seis períodos (ocho semanas cada uno), con mediciones repetidas cada semana. Cada tratamiento se ofreció a cinco repeticiones de 10 gallinas cada una.

Las características estudiadas fueron: consumo de alimento (g ave⁻¹ d⁻¹, CAL); consumo de fósforo disponible aparente (mg ave⁻¹ d⁻¹, CPd); masa de huevo (g ave⁻¹ d⁻¹, MH); conversión alimenticia (g:g, CA); peso del huevo (g, PH); y gravedad específica (GE), según la metodología propuesta por Hamilton⁽¹⁰⁾.

Para CAL, CPd, MH, CA y PH se realizó un análisis de varianza, mediante el procedimiento GLM y las medias se compararon con la prueba de Tukey, con el paquete estadístico SAS⁽¹¹⁾. Se utilizó el modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + P_j + (FP)_{ij} + S_{j(k)} + (FS)_{j(ik)} + R_{ij(l)} + \varepsilon_{ijkl} \dots\dots\dots [1]$$

Donde

Y_{ijkl} = es el valor de la variable respuesta correspondiente al i-ésimo nivel de fósforo disponible aparente en el j-ésimo periodo de la k-ésima semana de la l-ésima repetición; μ es la media general; F_i = efecto del i-ésimo nivel de fósforo disponible aparente $i = 1, 2, 3, 4$; P_j = efecto del j-ésimo periodo $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$; $(FP)_{ij}$ = la interacción entre nivel de fósforo disponible aparente y periodo; $S_{j(k)}$ = efecto de la k-ésima semana dentro del j-ésimo periodo; $(FS)_{j(ik)}$ = efecto de la interacción tratamiento por semana dentro del j-ésimo periodo; $R_{ij(l)}$ = efecto de la l-ésima repetición dentro de la interacción periodo por tratamiento; y ε_{ijkl} = es el error experimental.

from sorghum and soybean meal, 33 % available^(3,4).

The experimental design used was the completely randomized design with a 4 x 6 factorial arrangement, where the factors were: four levels of apparent aP (0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 %) and six periods (eight wk each), with weekly repeated measures. Each treatment was offered to five replicates of 10 hens each replicate.

The analyzed variables were the following: feed intake (g hen⁻¹ d⁻¹, FI); available phosphorus intake (mg hen⁻¹ d⁻¹, IaP); egg mass (g hen⁻¹ d⁻¹, EM); feed conversion (g:g, FC); egg weight (g, EW); and specific gravity (SG) accordingly with Hamilton⁽¹⁰⁾.

For FI, IaP, EM, FC, and EW, an analysis of variance was performed using the GLM procedure of SAS⁽¹¹⁾, and the means were compared with the Tukey test. The statistical model used was the following:

$$Y_{ijkl} = \mu + F_i + P_j + (FP)_{ij} + S_{j(k)} + (FS)_{j(ik)} + R_{ij(l)} + \varepsilon_{ijkl} \dots\dots\dots [1]$$

Where

Y_{ijkl} = is the value of analyzed variable corresponding with the i-th level of apparent available phosphorus in the j-th period of the k-th week in the l-th replicate; μ is the general average; F_i = is the i-th effect of the phosphorus level when $i = 1, 2, 3, 4$; P_j = is the effect of the j-th period when $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$; $(FP)_{ij}$ = is the interaction between the Pa level and the period; $S_{j(k)}$ = is the effect of the k-th web inside of the j-th period; $(FS)_{j(ik)}$ = is the effect of the interaction between treatment and week, inside of the j-th period; $R_{ij(l)}$ = is the effect of the l-th replicate inside of the interaction between period and treatment; and ε_{ijkl} = is the experimental error.

Orthogonal contrasts were performed to detect the tendencies of the dependent variables as a response to the aP level, to determine the elements included in the regression analysis, using SAS⁽¹¹⁾ to estimate the parameters of accumulated FI (AFI), accumulated EM (AEM), accumulated FC (AFC), and accumulated SG (ASG) during the whole analyzed laying cycle (48 wk). Three lineal models were used:

Se realizaron contrastes ortogonales para detectar las tendencias de las variables dependientes como respuesta al nivel de Pd, y así determinar qué elementos se incluirían en el análisis de regresión, que se realizó con el paquete estadístico SAS⁽¹¹⁾; para estimar los parámetros de CAL acumulado (CALA), MH acumulada (MHA), CA acumulada (CAA) y GE acumulada (GEA) en todo el ciclo de producción (48 semanas), se usaron tres modelos lineales:

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2(X_j) + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots [2]$$

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2(X_j) + \beta_3(X_j)^2 + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots [3]$$

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2(X_j) + \beta_3(X_j)^2 + \beta_4(X_j)^3 + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots [4]$$

Donde:

Y_{ijk} es la variable dependiente; β_0 a β_4 son los coeficientes de regresión; X_i son los días en producción de la gallina; X_j es el nivel de Pd en la dieta; los criterios para elegir el modelo de regresión fueron: el que presentara menor cuadrado medio del error y mayor coeficiente de determinación⁽¹²⁾.

Los niveles óptimos biológico (NOB) y óptimo económico (NOE) se calcularon mediante los modelos econométricos:

$$\text{Max } vr = f(Pd) \dots\dots\dots [5]$$

$$\text{Max } U(\$) = \text{Ingresos} - \text{Egresos} \dots\dots\dots [6]$$

con las restricciones: $Ax \leq b$ y $x \geq 0$, donde: vr = variable respuesta (CALA, MHA, CAA, o GEA); $f(Pd)$ = ecuación de regresión para estimar vr , en función de los niveles dietéticos de Pd; A = matriz de coeficientes que representan el aporte de nutrimentos de los ingredientes de la dieta (x); b = requerimientos nutrimentales; Ingresos (\$) = (MH (g) = $h(Pd)$) x (precio del huevo (\$)); Egresos (\$) = (CAL (g) = $i(Pd)$) x (costo de la dieta (\$)); $h(Pd)$ = ecuación de regresión para predecir la MH acumulada en todo el ciclo de producción, en función del nivel dietético de Pd; $i(Pd)$ = ecuación de regresión para predecir el CAL acumulado en todo el ciclo de producción, en función del nivel dietético de Pd.

El modelo econométrico se resolvió con el programa “solver” de Excel⁽¹³⁾. Se consideró el precio del

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2(X_j) + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots [2]$$

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2(X_j) + \beta_3(X_j)^2 + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots [3]$$

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2(X_j) + \beta_3(X_j)^2 + \beta_4(X_j)^3 + \varepsilon_{ijk} \dots\dots\dots [4]$$

Where:

Y_{ijk} is the dependent variable; β_0 to β_4 are the regression coefficients; X_i are the production days for the hen; X_j is the aP level in the diet. The criteria to pick up a regression model were: the one that presented the lower mean square of the error, and the higher determination coefficient⁽¹²⁾.

The optimum biological level (OBL) and the optimum economical level (OEL) were calculated with the econometric models:

$$\text{Max } vr = f(aP) \dots\dots\dots [5]$$

$$\text{Max } U(\$) = \text{Income} - \text{Production expenses} \dots\dots\dots [6]$$

With the following restrictions: $Ax \leq b$ and $x \geq 0$, where: vr = response variable (AFI, AEM, AFC, or ASG); $f(aP)$ = regression equation to estimate vr , as a function of dietary levels of aP; A = coefficients matrix representing the contribution of nutrients of dietary ingredients (x); b = nutrient requirements; Income (\$) = (EM (g) = $h(aP)$) x (egg price (\$)); Production expenses (\$) = (FI (g) = $i(aP)$) x (cost of diet (\$)); $h(aP)$ = regression equation to predict the accumulated egg mass during the whole laying period, as a function of the dietary level of aP; $i(aP)$ = regression equation to predict the accumulated FI during the whole laying period, as a function of the aP dietary level.

The econometric model was solved with the “Solver” command of Excel⁽¹³⁾. The egg price and the ingredients cost effective during the conduction of this experiment were considered to solve the model.

RESULTS

The main effects will be discussed, because there was no effect ($P > 0.05$) of the interaction between the apparent aP level and the period.

The feed intake of hens was different ($P \leq 0.05$) because of the aP level, where hens fed 0.15% of

Cuadro 2. Consumo de alimento y de fósforo disponible aparente, masa de huevo y conversión alimenticia de gallinas Hy line W-36 de 22 a 70 semanas de edad con diferentes niveles de fósforo disponible aparente

Table 2. Feed intake and intake of apparent available phosphorus, egg mass, and feed conversion of Hy line W-36 hens from 22 to 70 wk of age fed different levels of available phosphorus

	Level of apparent available phosphorus (%)					
Age (wk)	0.15	0.20	0.25	0.30	Average	SEM
Feed intake (g hen ⁻¹ d ⁻¹)						
22 – 30	84.7	87.9	86.8	85.1	86.1 d	0.538
31 – 38	96.6	98.5	96.1	95.8	96.7 c	0.538
39 – 46	98.3	101.1	98.6	101.1	99.7 b	0.538
47 – 54	101.2	103.1	102.3	101.0	101.9 ab	0.538
55 – 62	101.6	102.8	102.3	102.0	102.2 a	0.538
63 – 70	102.0	103.1	101.9	101.9	102.2 a	0.538
22 – 70	97.4 y	99.4 x	98.0 xy	97.8 xy		
SEM	0.439	0.439	0.439	0.439		
Intake of apparent available phosphorus (mg hen ⁻¹ d ⁻¹)						
22 – 30	127	176	217	255	194 c	1.387
31 – 38	145	197	240	287	217 b	1.387
39 – 46	147	202	246	303	225 a	1.387
47 – 54	151	206	256	303	229 a	1.387
55 – 62	152	205	256	306	230 a	1.387
63 – 70	153	206	255	306	230 a	1.387
22 – 70	146 z	199 y	245 x	293 w		
SEM	1.133	1.133	1.133	1.133		
Egg mass (g hen ⁻¹ d ⁻¹)						
22 – 30	46.4	47.5	45.4	47.8	46.8 c	0.433
31 – 38	52.9	53.9	52.0	52.5	52.8 ab	0.433
39 – 46	52.7	54.0	53.2	54.8	53.7 a	0.433
47 – 54	52.5	53.0	51.6	52.7	52.4 ab	0.433
55 – 62	51.2	52.0	51.0	52.7	51.7 b	0.433
63 – 70	47.8	50.7	48.6	49.1	49.1 d	0.433
22 – 70	50.6 yz	51.9 x	50.3 z	51.6 xy		
SEM	0.353	0.353	0.353	0.353		
Feed conversion						
22 – 30	1.83	1.86	1.93	1.79	1.85 a	0.164
31 – 38	1.83	1.83	1.85	1.83	1.83 a	0.164
39 – 46	1.87	1.87	1.85	1.84	1.86 a	0.164
47 – 54	1.93	1.95	1.98	1.92	1.95 b	0.164
55 – 62	1.99	1.99	2.01	1.94	1.98 b	0.164
63 – 70	2.15	2.04	2.10	2.09	2.09 c	0.164
22 – 70	1.93 xy	1.93 xy	1.96 y	1.90 x		
SEM	0.013	0.013	0.013	0.013		

abcd Indicate difference between periods ($P<0.05$).

wxyz Indicate difference by effect of the level of available phosphorus ($P<0.05$).

SEM= Standard error of the mean.

huevo y el costo de los ingredientes, vigentes durante la realización del experimento.

RESULTADOS

Se discuten únicamente los efectos principales, ya que no se encontró efecto de la interacción del nivel de fósforo disponible aparente (Pd) y período ($P > 0.05$).

El consumo de alimento de las gallinas fue diferente ($P \leq 0.05$) por efecto del nivel de Pd; con 0.15 % las gallinas consumieron 2 g d⁻¹ menos alimento que con 0.20 % de Pd. Durante los primeros tres periodos (22 a 46 semanas) el consumo de alimento se incrementó ($P \leq 0.05$) de 86 a 100 g, después se estabilizó hasta el final del experimento en 102 g. El consumo de Pd se incrementó ($P \leq 0.05$) a medida que el nivel de Pd en la dieta fue mayor, lo que corresponde con el diseño de la investigación (Cuadro 2).

La mayor masa de huevo se obtuvo con 0.20 % de Pd ($P \leq 0.05$), pero similar a la que se obtiene con 0.30 % de Pd. La máxima ($P \leq 0.05$) masa de huevo se logró en el periodo tres (39 a 46 semanas de edad), que es después del pico de producción, cuando el peso del huevo fue cercano a 60 g, después empezó a disminuir debido a que el porcentaje de postura disminuye (Cuadro 2).

El nivel de Pd influyó ($P \leq 0.05$) en la conversión alimenticia, la cual fue mejor con 0.30 % que con 0.25 %, pero similar a la que se logró con 0.15 y 0.20 % de Pd. El periodo afectó ($P \leq 0.05$) la CA, ya que se observó un comportamiento superior en las primeras semanas y disminuyó a medida que las gallinas avanzaron en edad, debido a que el consumo aumentó y la masa de huevo se redujo (Cuadro 2).

En porcentaje de postura se encontraron diferencias por efecto del nivel de Pd y del período ($P \leq 0.05$). Las gallinas con 0.25 % de Pd produjeron menos huevos por día que las que consumieron 0.20 y 0.30 %, sin superar a las de 0.15 % de Pd. La máxima ($P \leq 0.05$) producción de huevo por día se alcanzó en el período dos (31 a

aP had 2 g d⁻¹ less feed intake than the hens fed 0.20 % aP. During the first three periods (22 to 46 wk) the feed intake increased ($P \leq 0.05$) from 86 to 100 g; after that, it was stabilized in 102 g until the end of the experiment. The intake of aP increased ($P \leq 0.05$) as dietary aP level was higher, corresponding to the design of the experiment (Table 2).

The highest egg mass was obtained with 0.20% of aP ($P \leq 0.05$), but it was similar to the EM produced with 0.30 % of aP. The highest ($P \leq 0.05$) EM was obtained during the third period (39 to 46 wk of age), which is just after the production peak, when the egg weight was close to 60 g, and from there, begun to decrease due to the reduction of laying percentage (Table 2).

The aP level influenced ($P \leq 0.05$) feed conversion, which was better with 0.30 % than 0.25 %, but it was similar to the FC obtained with 0.15 and 0.20% of aP. The period affected ($P \leq 0.05$) FC, because it was observed higher response during the first weeks of the experiment, and it was reduced from this point as the hens aged, increasing feed intake and reducing egg mass (Table 2).

The laying percentage was affected by the aP level ($P \leq 0.05$) and the period ($P \leq 0.05$). The hens produced fewer eggs per day with 0.25 % of aP than with 0.20 and 0.30 %, and similar to the production with 0.15 %. The maximum egg production ($P \leq 0.05$) per day was obtained during the second period (31 to 38 wk of age), which corresponds to the laying peak, and it was consistently reduced after that as the hens aged (Table 3).

The egg weight was similar in all levels of aP, but it increased ($P \leq 0.05$) as an effect of period, because of the higher uterine capacity of the hens when they increase in age.

The specific gravity was higher ($P \leq 0.05$) with 0.25% of aP than 0.15 % and similar than the SG obtained with 0.20 and 0.30 %. In addition, SG decreased starting the second period ($P \leq 0.05$) because of the hens age (Table 3).

Cuadro 3. Porcentaje de postura, peso del huevo, gravedad específica del huevo de gallinas Hy line W-36 de 22 a 70 semanas de edad con diferentes niveles de fósforo disponible aparente

Table 3. Laying percentage, egg weight, and egg specific gravity of laying Hy Line W-36 hens from 22 to 70 wk of age fed different levels of apparent available phosphorus

	Level of apparent available phosphorus (%)					
Age (wk)	0.15	0.20	0.25	0.30	Average	SEM
Laying percentage						
22 – 30	89.4	90.3	87.2	91.1	89.5 ab	0.67
31 – 38	92.9	92.6	91.6	91.6	92.2 a	0.67
39 – 46	87.5	88.1	88.3	90.2	88.5 bc	0.67
47 – 54	87.0	87.6	83.9	86.7	86.3 c	0.67
55 – 62	79.9	80.7	79.1	81.6	80.3 d	0.67
63 – 70	72.4	76.1	74.2	75.0	74.4 e	0.67
22 – 70	84.8 xy	85.9 x	84.1 y	86.0 x		
SEM	0.55	0.55	0.55	0.55		
Egg weight (g)						
22 – 30	50.5	51.3	51.0	51.4	51.0 e	0.330
31 – 38	56.3	57.9	56.6	57.3	57.0 d	0.330
39 – 46	59.4	60.4	59.2	60.2	59.8 c	0.330
47 – 54	62.4	61.9	61.2	62.1	61.9 b	0.330
55 – 62	63.7	64.3	63.5	63.7	63.8 a	0.330
63 – 70	64.7	65.6	64.8	64.7	64.9 a	0.330
22 – 70	59.5	60.2	59.4	59.9		
SEM	0.269	0.269	0.269	0.269		
Egg especific gravity						
22 – 30	1.0813	1.0817	1.0820	1.0816	1.0816 ab	0.00019
31 – 38	1.0815	1.0822	1.0822	1.0818	1.0819 a	0.00019
39 – 46	1.0808	1.0808	1.0816	1.0809	1.0810 b	0.00019
47 – 54	1.0795	1.0796	1.0800	1.0792	1.0796 c	0.00019
55 – 62	1.0813	1.0821	1.0819	1.0813	1.0816 ab	0.00019
63 – 70	1.0792	1.0805	1.0799	1.0796	1.0798 c	0.00019
22 – 70	1.0806 y	1.0811 xy	1.0813 x	1.0807 xy		
SEM	0.00016	0.00016	0.00016	0.00016		

abcd Indicate differences between periods ($P \leq 0.05$).

wxyz Indicate differences by the effect of the available phosphorus level ($P \leq 0.05$).

SEM= Standard error of the mean.

38 semanas de edad), que corresponde con el pico de producción, después disminuyó de forma consistente a medida que las gallinas avanzaron en edad (Cuadro 3).

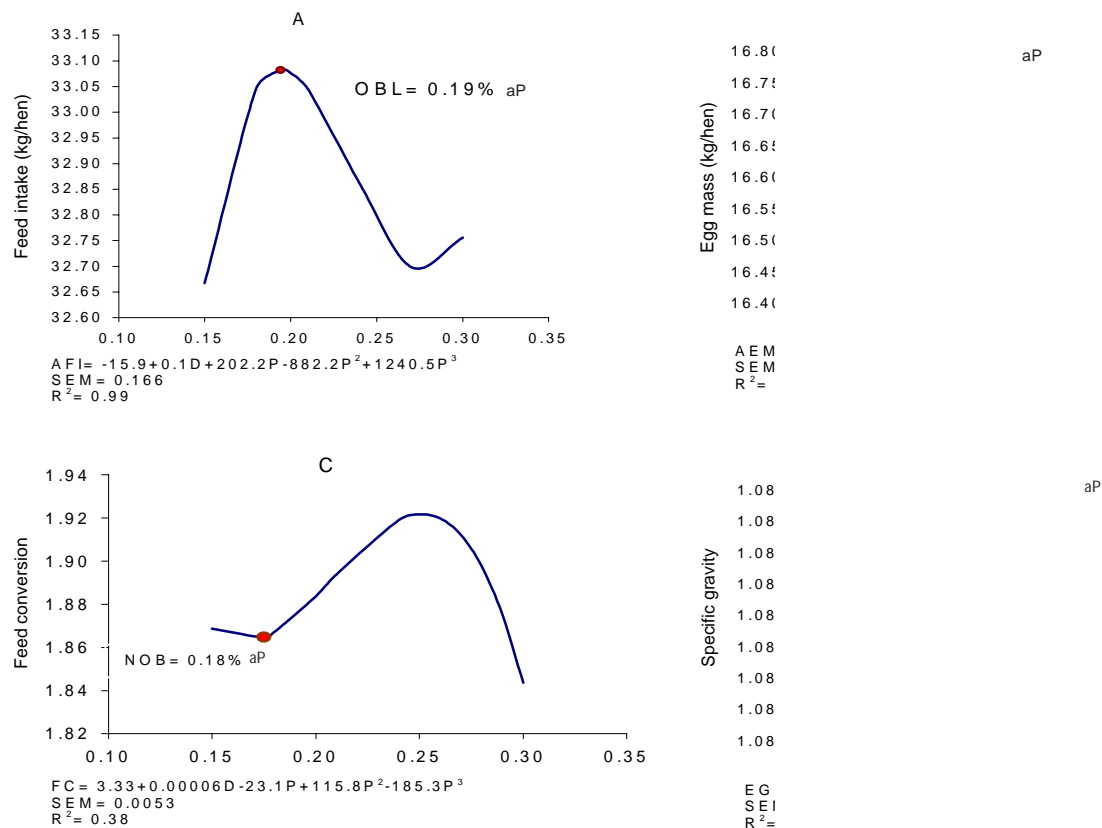
El peso del huevo fue similar en todos los niveles de Pd, pero aumentó ($P \leq 0.05$) por efecto del periodo, debido a que con la edad las gallinas son más grandes, y con una mayor capacidad uterina. La gravedad específica fue mayor ($P \leq 0.05$) con

The analysis of orthogonal contrasts showed quadratic and cubic effects ($P < 0.05$) for FI; lineal, quadratic and cubic ($P \leq 0.05$) effects for EM and FC; and quadratic for SG (Table 4), so, for FI, EM, and FC was used the regression model [4], and for SG the model [3].

The graphics and the models which best predicted AFI, AEM, AFC, and ASG, are shown in Figure 1. The optimum biological level (OBL) to maximize

Figura 1. Consumo de alimento (A), masa de huevo (B), conversión alimenticia (C) y gravedad específica del huevo (D) de gallinas Hy-line W36, de 22 a 70 semanas de edad, con niveles de fósforo disponible aparente

Figure 1. Feed intake (A), egg mass (B), feed conversion (C) and egg specific gravity (D) of laying Hy-line W36 hens from 22 to 70 wk of age, with different apparent available phosphorus (aP) levels



AFI= accumulated feed intake (kg hen⁻¹); AEM= accumulated egg mass (kg hen⁻¹); FC= feed conversion; EG= specific gravity; D= days in production (336); P, P² y P³= lineal, quadratic and cubic effects, respectively, of dietary aP level (%); SEM= squared error of the mean. The optimum biological level (OBL) of aP for each curve is indicated with a circle (●)

0.25 % Pd que con 0.15 % y similar con 0.20 y 0.30 % de Pd. Además, a partir del periodo dos la GE disminuyó ($P \leq 0.05$) por efecto de la edad (Cuadro 3).

El análisis de contrastes ortogonales mostró efectos cuadráticos y cúbicos ($P \leq 0.05$) para CAL; lineales, cuadráticos y cúbicos ($P \leq 0.05$) para MH y CA y cuadrático para la GE (Cuadro 4), así que para CAL, MH y CA se utilizó el modelo de regresión [4] y para GE [3].

Cuadro 4. Significancia de los contrastes ortogonales para determinar la tendencia de las variables de respuesta

Table 4. Significant value of orthogonal contrasts to determine the tendency of the response variables

	Lineal	Quadratic	Cubic
Feed intake	0.8048	0.0001	0.0001
Egg mass	0.0009	0.0080	0.0001
Feed conversion	0.0441	0.0001	0.0001
Specific gravity	0.3576	0.0001	0.6605

Las gráficas y los modelos que mejor predijeron la CALA, MHA, CAA y GE se muestran en la Figura 1. El nivel óptimo biológico (NOB) para maximizar la masa de huevo fue 0.18 % de Pd, similar al NOB para mínima conversión (0.18 %). Para máxima calidad de cascarón, medida como gravedad específica el NOB fue 0.23 % de Pd. El nivel óptimo económico fue 0.18 % y es sensible a cambios en los precios del huevo y del fosfato monocalcico (Cuadro 5).

DISCUSIÓN

Establecer las necesidades de Pd en gallinas de primer ciclo con la información obtenida resulta difícil, ya que la respuesta a los niveles de Pd no siguen una tendencia lineal, así que se recurre a las regresiones para discutir el fenómeno.

El nivel de fósforo disponible aparente (Pd) en la dieta tuvo un efecto cuadrático y cúbico en el consumo de alimento, siendo menor con 0.15 %, lo cual concuerda con otros autores^(6,14) quienes encontraron que con menos de 0.20 % de Pd el consumo de alimento disminuye, sobre todo si se llega a 0.10 %, cuando se presenta deficiencia de fósforo, y las reservas corporales de fósforo de la gallina disminuyen⁽¹⁴⁾; esto ocurre en gallinas jóvenes después de 12 semanas y en gallinas viejas a la segunda semana de consumir una dieta deficiente en fósforo⁽⁶⁾. El nivel más bajo que se evaluó en esta investigación fue 0.15 % de Pd, por lo que no se observaron síntomas de deficiencia, pero sí disminuyó el consumo de alimento y 0.15 % de Pd fue un nivel marginal.

La masa de huevo siguió una tendencia lineal, cuadrática y cúbica por efecto del nivel de Pd. Esta tendencia fue similar a la reportada en otra investigación⁽⁶⁾, en la que se probaron niveles de 0.1 a 0.4 % de Pd, mientras que el efecto fue lineal cuando los niveles de Pd fueron de 0.1 a 0.7% de Pd⁽⁶⁾. El nivel óptimo biológico (NOB) para máxima masa de huevo fue 0.18 % durante todo el ciclo de producción. Esto no significa que las necesidades sean constantes, puesto que en otros estudios se ha encontrado que las necesidades de Pd son mayores en gallinas viejas^(6,15,16). Con los

Cuadro 5. Nivel óptimo económico de fósforo disponible aparente frente a variaciones en el precio del huevo y del ortofosfato monocalcico

Table 5. Optimum economic level of apparent available phosphorus against the variations in the price of egg and monocalcium phosphate (U\$) / kg

Egg price	OEL (% Pa)	Monocalcium phosphate price	OEL (% Pa)
+50 % (15)*	0.18	+50 % (6.0)*	0.17
+40 % (14)	0.18	+40 % (5.6)	0.17
+30 % (13)	0.18	+30 % (5.2)	0.17
+20 % (12)	0.18	+20 % (4.8)	0.18
+10 % (11)	0.18	+10 % (4.4)	0.18
Actual (10)	0.18	Actual (4.0)	0.18
-10 % (9)	0.17	-10 % (3.6)	0.18
-20 % (8)	0.17	-20 % (3.2)	0.18
-30 % (7)	0.17	-30 % (2.8)	0.18
-40 % (6)	0.17	-40 % (2.4)	0.18
-50 % (5)	0.16	-50 % (2.0)	0.18

OEL= optimum economic level; Pa= apparent available phosphorus; * (us)

egg mass was 0.18% of aP, similar to the OBL for minimum FC (0.18%). For the maximum eggshell quality, measured as specific gravity, the OBL was 0.23% of aP. The optimum economical level was 0.18 %, and it was sensitive to changes in egg price and monocalcium phosphate price (Table 5).

DISCUSSION

Estimating the aP requirements for the first laying cycle of hens with the results showed in Tables 2 and 3 is a tough issue, because the response to the aP levels is not lineal, so, the regression procedure helps in the discussion of this phenomenon.

The level of available phosphorus in the diet had a quadratic and a cubic effect on feed intake, lower with 0.15 %, which agrees with other reports^(6,14) where it was found that less than 0.20% of aP reduces feed intake, and the lowest was with 0.10% when a phosphorus defficiency was observed and the P body reserves is depleted in the hen⁽¹⁴⁾; this happens in younger hens after 12 wk of age and in

resultados obtenidos, se puede ver que las necesidades de Pd, serían 155, 175 y 185 mg día⁻¹ en gallinas de 22 a 30, 31 a 38, y mayores de 39 semanas de edad, respectivamente, considerando la mayor capacidad de consumo de las aves. Lo cual en la práctica facilita el empleo de un solo nivel de Pd para todo el ciclo de producción, sin necesidad de ajustar el nivel de Pd por fases de alimentación⁽¹⁷⁾.

El nivel óptimo biológico para mínima conversión alimenticia fue 0.18 % de Pd, que es similar al NOB para máxima masa de huevo (0.18 %) y es igual al nivel óptimo económico (NOE; 0.18 %), debido a que las utilidades (modelo [6]) están determinadas por el consumo de alimento y la masa de huevo, variables que se relacionan para obtener la conversión alimenticia.

El efecto cúbico en MH y CA se pueden deber a la mejora en CAL de 0.15 a 0.20% de Pd, que permite maximizar estas características en 0.18%, ya que se corrige el efecto de un nivel marginal de fósforo^(6,14). Cerca de 0.25% de Pd el CAL y MH disminuyen, algo similar a lo encontrado en otras investigaciones⁽⁶⁾; después de ese nivel existe una tendencia a mejorar principalmente la MH, esto puede deberse a una mejor utilización de la energía pues el fósforo es parte de la adenosin 5'-trifosfato⁽⁴⁾ ó a una mayor disponibilidad de minerales de la resorción ósea, por mayor mineralización de los huesos largos⁽⁵⁾.

En cuanto a la CA se observa gráficamente una menor conversión con 0.3%, sin embargo el punto en el que la función del modelo econométrico (modelo [5]) con efectos cúbicos (modelo [4]) se hace mínima para esta característica es 0.18%. Además la solución de los modelos se realiza a partir de una matriz para formulación a mínimo costo, por lo que tanto el NOB y NOE se optimizan en el primer máximo para CAL, MH y utilidades y en el primer mínimo para CA⁽¹³⁾.

La gravedad específica se mejora al incrementar el nivel de Pd de 0.15 a 0.23 %, siendo éste el nivel óptimo para maximizar la calidad del cascarón, este NOB es muy cercano (0.24 %) al encontrado

older hens after the second week of ingesting a P deficient diet⁽⁶⁾. The lowest dietary aP level in this experiment was 0.15 %, but no P deficiency symptoms were observed besides the reduction of feed intake, so, the 0.15% of aP was a marginal level.

The egg mass had a lineal, quadratic, and cubic tendencies as an effect of aP level, similar to the one observed for feed intake. This tendencies were similar to the one reported in other research where levels of 0.1 to 0.4 % of aP were tested, whilst the effect was lineal when the aP levels varied from 0.1 to 0.7 %⁽⁶⁾. The optimum biological level for maximum egg mass was 0.18 % during the whole laying cycle. This does not mean that the P requirements are constant, because in other studies it has been found that the aP needs are higher for older hens^(6,15,17). With the results obtained in this experiment, it can be seen that the aP needed would be 155, 175 and 185 mg day⁻¹ for hens of 22 to 30, 31 to 38, and older than 39 wk of age, respectively, considering the higher feed intake capacity of the hens. This facilitates the practical use of a single level of aP for the whole laying cycle, without the need of adjusting its level for each phase of feeding⁽¹⁶⁾.

The optimum biological level for maximum feed conversion was 0.18 % of aP, that is the same as for maximum egg mass (0.18 %) and the optimum economical level (OEL; 0.18 %), because of the profits (model [6]) are determined for the feed intake and the egg mass, variables interrelated to obtain feed conversion.

The specific gravity improves as the aP level is increased in the diet from 0.15 to 0.23 %, being the last the optimum level to maximize eggshell quality, and this level is too close to the 0.24 % of aP reported in other study for adult hens⁽¹⁷⁾. After 0.23 % of aP, the specific gravity is reduced (Figure 1), which agrees with other reports^(1,6,14,18) where it was found that the eggshell quality was reduced as the dietary P level was increased. It has been remarked that feeding a P deficient diet (0.10 %) the eggshell quality was improved⁽¹⁶⁾, but it was a temporal effect due to the increase in the synthesis

en otro estudio con gallinas adultas⁽¹⁶⁾. Después de 0.23 % de Pd la gravedad específica disminuye lo cual concuerda con otros estudios^(1,6,14,18) en los que se ha encontrado que la calidad del cascarón disminuye al incrementar los niveles de fósforo. Se ha señalado que con una dieta deficiente de fósforo (0.10 % Pd) se mejora la calidad del cascarón⁽¹⁷⁾, pero es un efecto temporal, debido a un incremento en la síntesis de 1,25-dihidroxicolecalciferol en el riñón, estimulada por un nivel bajo de fósforo en plasma, lo que favorece la absorción de calcio y fósforo en el intestino mejorando la calidad del cascarón, lo cual en el largo plazo se pierde^(2,5,19).

Las necesidades de Pd obtenidas de 155 a 185 mg gallina⁻¹ día⁻¹ fueron similares a las que se encontraron en gallinas de 20 a 60 semanas de edad en dos experimentos^(8,20) de 0.15 % (155 a 159 mg d⁻¹), en gallinas de 25 a 61 semanas de edad (0.16 %) y a los de Snow *et al.*⁽³⁾, que encontraron que en gallinas de primer ciclo el nivel de Pd de la dieta debe ser 0.18 % para asegurar un consumo de 198 mg, sólo que estos últimos autores utilizaron gallinas Dekalb Delta, que consumen más alimento que las gallinas Hy line W36 (107-120 g vs 97-99 g en promedio). Por otra parte, son menores a las sugeridas por el NRC⁽⁴⁾ de 250 mg, y por la guía de manejo de la gallina Hy line de 400 mg⁽⁷⁾.

Otros estudios indican que las necesidades son mayores, ya que con 0.20 % Pd se disminuye la producción en comparación con una dieta con 0.40^(21,22); sin embargo en el primer estudio los autores asumen una disponibilidad de fósforo de la dieta maíz-pasta de soya de 50 %, pero que considerando el 30 % de disponibilidad como lo sugiere el NRC⁽⁴⁾ en realidad se trata de una dieta con 0.13 a 0.14 % de Pd y no 0.20 %. En el otro estudio indicado⁽²²⁾ se sugieren 0.40 % de Pd en gallinas de 18 a 55 semanas de edad, debido a que aún están en crecimiento, y para gallinas de 56 a 67 semanas de edad 0.22 %, que es mayor al NOB para máxima producción de huevo (0.18 %), pero similar al NOB para máxima gravedad específica.

Los resultados de este estudio apuntan, y son consistentes con otros anteriores, que indican que

of 1,25-dihydroxycholecalciferol in kidney, stimulated by the low plasma level of P, favoring the absorption of Ca and P in the small intestine, improving the eggshell quality, effect that in the long term is lost^(2,5,20).

The needs of aP of 155 to 185 mg hen⁻¹ day⁻¹ were similar to the values found for 20-60 wk hens in two experiments^(8,19) of 0.15 % (155 to 159 mg d⁻¹), in hens from 25 to 61 wk of age (0.16 %) and agree with the Snow *et al.*⁽³⁾ results, which found that the dietary aP level for laying hens during the whole first cycle should be 0.18 % to assure an intake of 198 mg, but these authors used Dekalb Delta hens, which ingest more feed in comparison to Hy-line W36 hens (107-120 g vs 97-99 g average). On the other hand, they are lower than the values suggested by NRC⁽⁴⁾ of 250 mg and by the Hy-line management guide of 400 mg⁽⁷⁾.

Other studies indicate that the needs are higher, because with 0.20 % of aP the egg production is reduced in comparison with a 0.40 % diet^(21,22); however, in the first study the authors assumed a phosphorus availability of 50 % in a corn-soybean meal diet, but, considering a 33 % of availability suggested by NRC⁽⁴⁾ the actual level ranged from 0.13 to 0.14 % of aP and not 0.20 %. In the other study above mentioned⁽²²⁾ it is suggested 0.40 % of aP for hens of 18 to 55 wk of age, because they are still growing, and 0.22 % for hens of 56 to 67 wk of age, which is higher than the OBL for maximum egg production (0.18 %), but similar to the OBL for maximum specific gravity (0.23 %).

The results of this study show, and are consistent with other authors, indicating that the aP requirements for the currently hens are lower than the values suggested⁽⁴⁾ and the values used in practical diets, besides that the feed intake is lower, which is beneficial because the reduction of feed cost and of environmental pollution of P⁽⁵⁾, without affecting egg production.

CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

The available phosphorus requirements to maximize egg production of Hy-line W36 hens are lower

las necesidades de Pd de las gallinas actuales son menores a lo sugerido⁽⁴⁾ y a los utilizados en la práctica, a pesar de que el consumo de alimento es menor, lo cual es benéfico porque disminuye el costo de la dieta y la contaminación de fósforo al ambiente⁽⁵⁾, sin afectar la producción de huevo.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Las necesidades de fósforo disponible aparente para maximizar la producción de huevo en gallinas Hy line W36 son menores a 0.25 % y son diferentes en función del objetivo de producción. Para maximizar la producción de huevo se debe usar una dieta con 0.18 % y si se quiere una buena calidad del cascarón el nivel adecuado es 0.23 %. El nivel óptimo económico (0.18 %) es sensible a los cambios del precio del huevo y del fosfato monocalcico. Esto implica que en dietas comerciales para gallinas en postura durante el primer ciclo de producción se debe reducir el nivel de fósforo disponible aparente a 0.18%, es decir suplementar 0.34% de fosfato monocalcico a una dieta sorgo-pasta de soya, con un beneficio económico y una reducción en la contaminación ambiental al emplear menos fósforo inorgánico.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) México, como parte del proyecto 38286-B.

LITERATURA CITADA

1. Said NW, Sullivan TW, Sunde ML, Bird HR. Effect of dietary phosphorus level and source on productive performance and egg quality of two commercial strain of laying hens. *Poult Sci* 1984;63:2007-2019.
2. Roland DASr, Farmer M. Studies concerning possible explanations for the varying response of different phosphorus levels on eggshell quality. *Poult Sci* 1986;65:956-963.
3. Snow JL, Douglas MW, Koelkebeck KW, Batal AB, Persia ME, Biggs PE, Parsons CM. Minimum phosphorus requirement

than 0.25 % and different accordingly with the production objective. To maximize egg production a dietary level of 0.18 % must be used, and if a good eggshell quality is required, an aP level of 0.23 % is adequate. The optimum economical level (0.18 %) is sensitive to the changes of egg and monocalcium phosphate prices. That implies that in commercial standard diets for laying hens during their first laying cycle the aP level must be reduced to 0.18 %, meaning the addition of 0.34 % of monocalcium phosphate to a sorghum-soybean meal diet, with an economical benefit and the reduction of environmental pollution using less inorganic phosphorus.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was done with the financial support of the *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) México*, as a part of the proposal number 38286-B.

End of english version

-
- of one-cycle and two-cycle (molted) hens. *Poult Sci* 2004;83:917-924.
 4. NRC. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. National Research Council,. Washington, DC.USA: National Academy Press; 1994.
 5. Roland DASr, Gordon RW. Phosphorus and calcium optimization in laying diets with phytase. In: BASF Technical Symposium , Phytase in animal nutrition and waste management, Atlanta, GA. BASF Corporation, Mt. Olive, NJ. 1996:305-316.
 6. Sohail SS, Roland DASr. Influence of dietary phosphorus on performance of Hy-Line W36 hens. *Poult Sci* 2002;81:75-83.
 7. Anónimo. Guía de manejo comercial de la Hy line W36, 2002-2003. Hy-Line International, West Des Moines, Iowa 50265. www.hyline.com USA. 2002.
 8. Boling SD, Douglas MW, Johnson ML, Wang X, Parsons CM, Koelkebeck KW, Zimmerman RA. The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. *Poult Sci* 2000;79:224-230.
 9. Keshavarz K. Further investigations on the effect of dietary manipulation of protein, phosphorus, and calcium for reducing their daily requirement for laying hens. *Poult Sci* 1998;77:1333-1346.
 10. Hamilton RMG. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. *Poult Sci* 1982;45:805-809.

11. SAS Institute. Statistical Analysis System. The SAS system for Windows release 8.0. USA. 1999.
12. Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. Third edition. New York USA: Ed. McGraw-Hill; 1997.
13. Microsoft Excel. Microsoft Corporation, Redmond, WA. 2000.
14. Usayran N, Balnave D. Phosphorus requirements of laying hens fed on wheat-based diets. *Br Poult Sci* 1995;36:285-301.
15. Scheideler S, Shell R. Effect of calcium and phase feeding phosphorus on production traits and phosphorus retention in two strains of laying hens. *Poult Sci* 1986;65:2110-2119.
16. Soni-Guillermo E, Cuca-García M, Pro-Martínez A, González-Alcorta M, Becerril-Pérez C, Morales-Barrera E. Nivel óptimo biológico y económico de fósforo en gallinas Leghorn Blancas en el segundo ciclo de postura. *Agrociencia* 2004;38:593-601.
17. Keshavarz K. Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. *Poult Sci* 2000; 79:748-763.
18. Rao SK, Hoerr FJ, Roland DASr. Response of early and late-maturing commercial Leghorn pullets to low levels of dietary phosphorus. *Poult Sci* 1992;71:691-699.
19. Boorman KN, Gunaratne SP. Dietary phosphorus supply, egg-shell deposition and plasma inorganic phosphorus in laying hens. *Br Poult Sci* 2001;42:81-91.
20. Boling SD, Douglas MW, Shirley RB, Parsons CM, Koelkebeck KW. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. *Poult Sci* 2000;79:535-538.
21. Summers JD. Reduced dietary phosphorus levels for layers. *Poult Sci* 1995;74:1977-1983.
22. Scott TA, Kampen R, Silversides FG. The effect of phosphorus, phytase enzyme, and calcium on performance of layers fed corn-based diets. *Poult Sci* 1999;78:1742-1749.